

AN

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2001 年 12 月 6 日 (06.12.2001)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 01/91795 A1

(51) 国際特許分類: A61K 45/00, 31/7072, 31/7076,  
31/7084, A61P 27/02 // C07H 19/10, 19/20

〒630-0101 奈良県生駒市高山町8916番-16 参天製薬  
株式会社 奈良RDセンター内 Nara (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP01/04520

(74) 代理人: 岸本 瑛之助, 外 (KISHIMOTO, Einosuke et al.); 〒542-0086 大阪府大阪市中央区西心斎橋1丁目13番18号 イナビル3階 岸本瑛之助特許事務所内 Osaka (JP).

(22) 国際出願日: 2001 年 5 月 30 日 (30.05.2001)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:  
特願2000-159889 2000 年 5 月 30 日 (30.05.2000) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 参天製薬株式会社 (SANTEN PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒533-8651 大阪府大阪市東淀川区下新庄3丁目9番19号 Osaka (JP). インスパイアー ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド (INSPIRE PHARMACEUTICALS, INC.) [US/US]; 27703 ノースカロライナ州 ダーハム スート470, エンペラー プレバード4222 North Carolina (US).

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) 発明者; および  
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 中田勝彦 (NAKATA, Katsuhiko) [JP/JP]. 中村雅胤 (NAKAMURA, Masatsugu) [JP/JP]. 藤原 勉 (FUJIHARA, Tsutomu) [JP/JP]. 藤田広己 (FUJITA, Hiromi) [JP/JP];

添付公開書類:  
— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: ECTOCORNEA EXTENSION PROMOTERS

(54) 発明の名称: 角膜上皮伸展促進剤

(57) Abstract: As the results of searching for compounds having an effect of promoting ectocornea extension in the ophthalmological field, it is found out that P2Y receptor agonists typified by phosphoric acid compounds having adenosyl, uridyl, xanthosyl, guanosyl or thymidyl and salts thereof exhibit an excellent effect of promoting ectocornea extension.

(57) 要約:

WO 01/91795 A1

本発明は、眼科領域において角膜上皮伸展促進効果を奏する化合物を探索した結果、アデノシル基、ウリジル基、キサントシル基、グアノシル基若しくはチミジル基を有するリン酸化合物またはその塩類に代表される P 2 Y 受容体アゴニストが優れた角膜上皮伸展促進作用を発揮することを見出し、達成されたものである。

## 明 細 書

## 角膜上皮伸展促進剤

## 5 技術分野

本発明は、P 2 Y受容体アゴニストを有効成分とする角膜上皮伸展促進剤に関する。

## 背景技術

- 10 角膜は直径約1 cm、厚さ約1 mmの透明な無血管の組織である。角膜の透明性は視機能に重要な影響を与えており、角膜における種々の生理生化学的現象は、主として角膜の透明性の維持ということを目的として機能している。

- 角膜潰瘍、角膜上皮剥離、角膜炎またはドライアイ等の種々の疾患により引き起こされた角膜上皮欠損は、混合感染の併発がなければ自然に修復する。しかし、何らかの理由で修復が遅延したりあるいは修復が行われずに上皮欠損が遷延化すると、上皮の正常な構築に悪影響を与えるのみならず、実質や内皮の構造や機能まで害される。従来からの治療法の原理は、外界の刺激から角膜表面を保護することにより自然に  
15 上皮が伸展して欠損部の再被覆をはかるという受動的なものである。近年、細胞生物学の発展に伴い、細胞の分裂・移動・接着・伸展等に関与する因子が解明されており、角膜上皮欠損の修復には、角膜上皮の伸展を促進する化合物が重要な  
20 役割を担うことが報告されている（臨眼，46，738-743（1992）、眼科手術，5，719-727（1992））。

一方、本発明の有効成分であるP 2 Y受容体アゴニストに関する研究も種々報告されている。例えば、ウリジン5' -

三リン酸（UTP）やアデノシン三リン酸（ATP）などを使用して粘液分泌の保持に特徴的に関与する肺疾患を治療することが米国特許第5, 292, 498号に、P2Y受容体アゴニストであるUTPや他のリン酸ヌクレオシドが中耳炎治療剤として有効であることがWO97/29756号に、また、UTPなどのP2Y受容体アゴニストが涙液分泌作用を有し、ドライアイや鼻涙管の障害の治療に有用であることがWO98/34593号に報告されている。しかし、これらのP2Y受容体アゴニストの角膜上皮伸展作用に関する研究は未だなされていない。

上記P2Y受容体アゴニストについて新たな用途を見出すことは興味深く、また、眼科領域において角膜上皮伸展促進効果を奏する化合物を探索することは非常に重要な課題である。

#### 発明の開示

本発明者等は、種々の化合物を探索してその薬理作用を試験したところ、P2Y受容体アゴニストが角膜上皮伸展作用を有することを見出し本発明に至った。

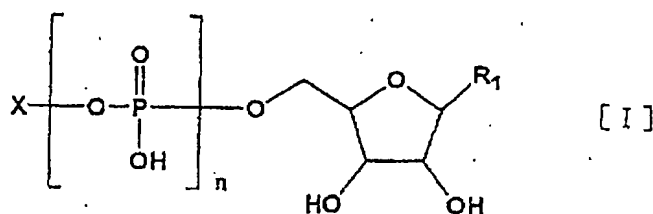
本発明は、例えば、下記一般式〔I〕で表される化合物（以下特記なき限り「本化合物」という）またはその塩類であるP2Y受容体アゴニストを有効成分とする角膜上皮伸展促進剤を提供する。

本発明は、また、有効量のP2Y受容体アゴニストまたはその薬理的に許容される塩を、薬理的に許容される添加剤と共に含む組成物を、患者に投与することからなる角膜上皮の

伸展方法を提供する。

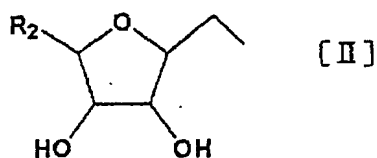
本発明は、さらに、角膜上皮伸展促進剤の製造のための P  
2 Y 受容体アゴニストの使用を提供する。

5



10 (式中、n は 1 ~ 4 の整数を、X は水素原子または化学式  
[II] で表される基

15



を、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>は同一かまたは異なって、ウラシル基、チミル  
基、アデニル基、キサンチル基またはグアニル基をそれぞれ  
20 示す。)

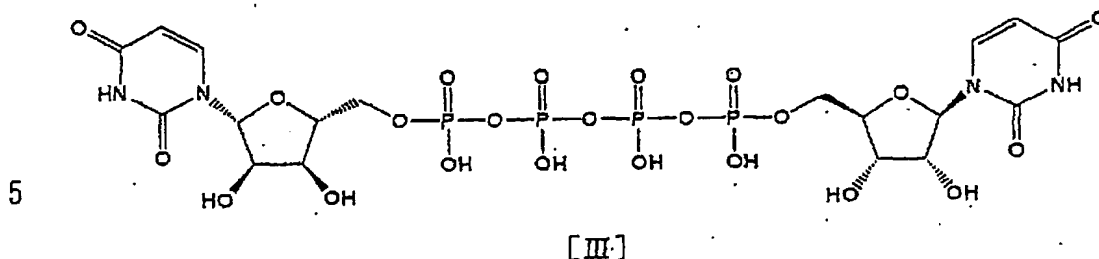
本化合物中のウラシル基、チミル基、アデニル基、キサン  
チル基、グアニル基には、フッ素、塩素、臭素等のハロゲン  
原子、メチル基、エチル基、プロピル基、ヘキシル基等の炭  
素数 1 ~ 6 の直鎖または分枝の低級アルキル基、メトキシ基、  
25 エトキシ基、プロピルオキシ基、ヘキシルオキシ基等の炭素  
数 1 ~ 6 の直鎖または分枝の低級アルコキシ基、フェニル基、  
トリル基等のアリール基、フェノキシ基等のアリールオキシ  
基、ベンジル基、フェネチル基等のアラルキル基、ヒドロキ

シル基などが置換していてもよい。また、アデニル基またはグアニル基におけるアミノ基は、汎用される保護基で保護されていてもよく、保護基の例としては、アセチル基、ピバロイル基等の炭素数2～6の低級アルカノイル基、ベンゾイル基等のアリールカルボニル基が挙げられる。R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>の好ましい基として、アデニル基、ウラシル基を挙げることができる。

本化合物の塩類としては、医薬として許容される塩であれば特に制限はなく、例えばナトリウム、カリウム、カルシウム等のアルカリ金属またはアルカリ土類金属との塩；アンモニアまたはジエチルアミン、トリエタノールアミン等の有機アミンとの塩；塩酸、硫酸、リン酸等の無機酸との塩；乳酸、マレイン酸、フマル酸、シュウ酸、メタンスルホン酸、パラトルエンスルホン酸等の有機酸との塩などが挙げられる。

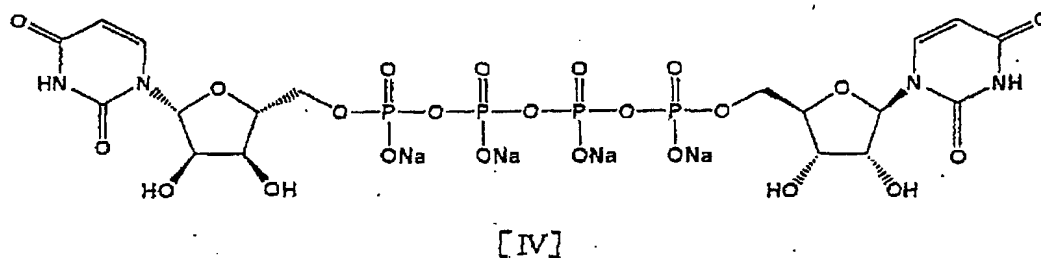
本化合物には、光学異性体やジアステレオ異性体が存在するが、これらの異性体も本発明に含まれる。また、本化合物は、例えば水和物の形態など溶媒和物となってもよい。

本化合物のうち特に優れた作用を有するものとして、例えばウリジン5'-二リン酸、アデノシン5'-二リン酸、ウリジン5'-三リン酸、アデノシン5'-三リン酸、化学式[III]で表されるP<sup>1</sup>、P<sup>4</sup>-ジ（ウリジン-5'）四リン酸またはこれらの塩類を挙げることができる。



これらの化合物のうち、とりわけ化学式 [IV] で表される  
ナトリウム塩が優れた角膜上皮伸展作用を有する。

10



従来の技術の項で示したように、種々の原因により障害を  
受けた角膜の修復には角膜上皮伸展が密接に関与している。  
後述の薬理試験でも明らかなように、本発明に係る P 2 Y 受  
容体アゴニストは優れた角膜上皮伸展作用を有するので、種  
々の角膜障害の治療に有用である。角膜障害の例としては、  
角膜潰瘍、角膜上皮剥離、角膜炎等が挙げられる。また、上  
皮伸展作用において角膜と結膜では実質的な差異が認められ  
ないことから、P 2 Y 受容体アゴニストは角膜だけでなく、  
25 結膜障害に対しても修復作用を奏するものであり、総じてい  
えば、P 2 Y 受容体アゴニストは角結膜障害の治療に有用で  
ある。

ところで、P 2 Y 受容体にはいくつかのサブタイプが知ら

れており、その中でも特に P 2 Y<sub>2</sub>受容体が良く知られている。この P 2 Y<sub>2</sub>受容体アゴニストの代表的な化合物例が、米国特許第 5, 292, 498 号、WO 97/29756 号等に関示されている。

- 5 本発明に係る P 2 Y 受容体アゴニストの投与方法は特に制限されないが、局所投与、特に点眼剤として投与することが好ましい。

- 点眼剤における P 2 Y 受容体アゴニストの濃度は症状、年齢等に応じて設定すればよく、特に限定する必要はないが、  
10 0.0001%~15%、好ましくは 0.01%~10% である。投与量としては、点眼液を例にすれば 1 回 1 滴~数滴、1 日 1~数回点眼すればよい。点眼剤は、通常の点眼液のほか、用時溶解型の点眼液でもよい。剤型は眼軟膏であってもよい。

- 15 製剤化に際しては、塩化ナトリウム、塩化カリウム等の等張化剤、リン酸ナトリウム、リン酸水素ナトリウム、リン酸二水素ナトリウム等の緩衝化剤、エデト酸ナトリウム等の安定化剤、塩化ベンザルコニウム、ソルビン酸等の防腐剤、水酸化ナトリウム、希塩酸等の pH 調整剤、白色ワセリン、流動  
20 パラフィン等の眼軟膏用基剤などの添加物を必要に応じて加え、常法により製剤化できる。

以下に、本発明の実施例を示すが、これらの例は本発明をよりよく理解するためのものであり、本発明の範囲を限定するものではない。

## 発明を実施するための最良の形態

### [薬理試験]

#### 角膜上皮伸展に対する作用

雄性日本白色ウサギの角膜を用い、Nishida らの方法 (J. Cell Biol., 97, 1653-1657 (1983)) に準じ、角膜片の組織培養系での角膜上皮伸展長を指標にして検討した。

#### (実験方法)

ウサギ角膜片より切り出した角膜ブロック (1群6個) を、本化合物を含む培養液 (TCM-199) 中で、37℃・5% CO<sub>2</sub> の条件下24時間培養した。培養後、角膜ブロックをエタノール-氷酢酸 (容積比95:5) 混合液中で固定し、パラフィンで包埋し切片を作製した。切片を脱パラフィンした後、ヘマトキシリン-エオジン染色し、顕微鏡下で上皮細胞層の伸展長を測定した。コントロールとしては本化合物を  
15 含まない培養液で同様に培養したものを用いた。

#### (結果)

表1にP<sup>1</sup>, P<sup>4</sup>-ジ (ウリジン-5') 四リン酸四ナトリウム [DUTP-Na]、ウリジン5'-二リン酸二ナトリウム [UDP-Na]、アデノシン5'-二リン酸二ナトリウム [ADP-Na]、ウリジン5'-三リン酸三ナトリウム [UTP-Na] およびアデノシン5'-三リン酸三ナトリウム [ATP-Na] の各化合物の角膜上皮伸展率を、コントロールを100%とした百分率で示す。

表 1

薬剤 (濃度)	角膜上皮伸展率 (%)
DUTP-Na (100 $\mu$ M)	118.9
UDP-Na (100 $\mu$ M)	115.3
ADP-Na (10 $\mu$ M)	116.1
UTP-Na (100 $\mu$ M)	123.1
ATP-Na (10 $\mu$ M)	119.3
コントロール	100.0

## [製剤例]

本化合物の代表例として $P^1$ ,  $P^4$ -ジ (ウリジン-5')  
 15 四リン酸四ナトリウム [DUTP-Na]、ウリジン5'-  
 三リン酸三ナトリウム [UTP-Na] およびウリジン5'-  
 ニリン酸二ナトリウム [UDP-Na] を用いた代表的な  
 製剤例を以下に示す。

## 実施例 1

20 100 ml 中

DUTP-Na 10 mg

塩化ナトリウム 90.0 mg

滅菌精製水 適量

25  $P^1$ ,  $P^4$ -ジ (ウリジン-5') 四リン酸四ナトリウム  
 [DUTP-Na] の添加量を変えることにより、濃度が0.  
 03% (w/v)、0.1% (w/v)、0.3% (w/v)  
 、1.0% (w/v)、3.0% (w/v) の点眼液も調製

できる。

## 実施例 2

100 ml 中

	UTP-Na	100 mg
5	塩化ナトリウム	800 mg
	リン酸水素二ナトリウム	100 mg
	リン酸二水素ナトリウム	適量
	滅菌精製水	適量

- 10 ウリジン 5' - 三リン酸三ナトリウム [UTP-Na] の添加量を変えることにより、濃度が 0.3% (w/v)、0.5% (w/v)、1.5% (w/v)、3% (w/v) の点眼液も調製できる。

## 15 実施例 3

100 g 中

	DUTP-Na	0.3 g
	流動パラフィン	10.0 g
	白色ワセリン	適量

20

P<sup>1</sup>, P<sup>4</sup>-ジ (ウリジン-5') 四リン酸四ナトリウム [DUTP-Na] の添加量を変えることにより、濃度が 1% (w/w)、3% (w/w) の眼軟膏も調製できる。

## 25 実施例 4

100 g 中

	UDP-Na	0.3 g
	流動パラフィン	10.0 g

白色ワセリン

適量

ウリジン 5' - ニリン酸二ナトリウム [UDP-Na] の  
添加量を変えることにより、濃度が 1% (w/w)、5%  
5 (w/w) の眼軟膏も調製できる。

表 1 に示すように、本発明の P<sup>1</sup>, P<sup>4</sup>-ジ (ウリジン-5'  
) 四リン酸四ナトリウム [DUTP-Na]、ウリジン 5'  
- ニリン酸二ナトリウム [UDP-Na]、アデノシン 5'  
10 - ニリン酸二ナトリウム [ADP-Na]、ウリジン 5' -  
三リン酸三ナトリウム [UTP-Na]、アデノシン 5' -  
三リン酸三ナトリウム [ATP-Na] はいずれも顕著な角  
膜上皮伸展作用を有していることが認められる。かかる薬理  
試験の結果から、本発明に係る P<sub>2</sub>Y 受容体アゴニストを有  
15 効成分とする薬剤は、優れた角膜上皮伸展促進効果を奏し、  
角結膜障害の治療に有用である。

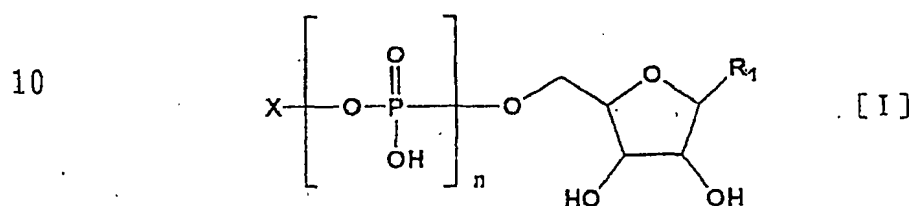
#### 産業上の利用可能性

P<sub>2</sub>Y 受容体アゴニストは優れた角膜上皮伸展促進作用を  
20 発揮し、角結膜障害の治療に有用である。

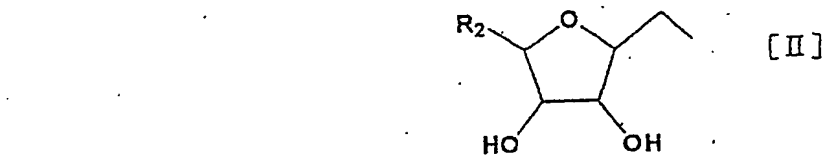
## 請求の範囲

1. P<sub>2</sub>Y受容体アゴニストを有効成分とする角膜上皮伸展促進剤。

5 2. P<sub>2</sub>Y受容体アゴニストが下記一般式 [I] で表される化合物またはその塩類である請求項1記載の角膜上皮伸展促進剤。



(式中、nは1～4の整数を、Xは水素原子または化学式  
15 [II] で表される基



を、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>は同一かまたは異なって、ウラシル基、チミル基、アデニル基、キサンチル基、グアニル基をそれぞれ示す。  
)

25 3. P<sub>2</sub>Y受容体アゴニストがP<sup>1</sup>, P<sup>4</sup>-ジ(ウリジン-5')四リン酸、ウリジン5'-二リン酸、アデノシン5'-二リン酸、ウリジン5'-三リン酸若しくはアデノシン5'-三リン酸またはその塩類である請求項1又は請求

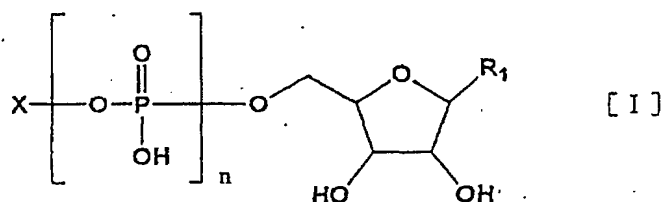
項 2 記載の角膜上皮伸展促進剤。

4. 有効量の P 2 Y 受容体アゴニストまたはその薬理的に許容される塩を、薬理的に許容される添加剤と共に含む組成物を、患者に投与することからなる角膜上皮の伸展方法。

5 法。

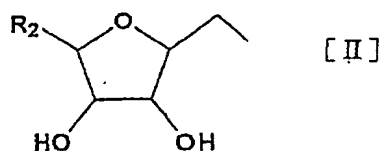
5. P 2 Y 受容体アゴニストが下記一般式 [ I ] で表される化合物またはその塩類である請求項 4 記載の角膜上皮の伸展方法。

10



15 (式中、n は 1 ~ 4 の整数を、X は水素原子または化学式 [ II ] で表される基

20



を、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>は同一かまたは異なって、ウラシル基、チミル基、アデニル基、キサンチル基、グアニル基をそれぞれ示す。

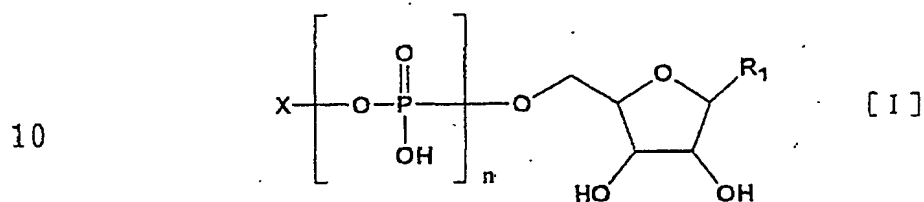
25 )

6. P 2 Y 受容体アゴニストが P<sup>1</sup>, P<sup>4</sup>-ジ (ウリジン-5') 四リン酸、ウリジン 5' -二リン酸、アデノシン 5' -二リン酸、ウリジン 5' -三リン酸若しくはアデノ

シン 5' -三リン酸またはその塩類である請求項 4 又は請求項 5 記載の角膜上皮の伸展方法。

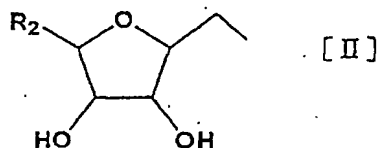
7. 角膜上皮伸展促進剤の製造のための P 2 Y 受容体アゴニストの使用。

5 8. P 2 Y 受容体アゴニストが下記一般式 [I] で表される化合物またはその塩類である請求項 7 記載の使用。



(式中、n は 1 ~ 4 の整数を、X は水素原子または化学式 [II] で表される基

15



20

を、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>は同一かまたは異なって、ウラシル基、チミル基、アデニル基、キサンチル基、グアニル基をそれぞれ示す。

)

9. P 2 Y 受容体アゴニストが P<sup>1</sup>, P<sup>4</sup>-ジ (ウリジン-5') 四リン酸、ウリジン 5' -二リン酸、アデノシン 5' -二リン酸、ウリジン 5' -三リン酸若しくはアデノシン 5' -三リン酸またはその塩類である請求項 7 又は請求項 8 記載の使用。

25

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/04520

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.<sup>7</sup> A61K45/00, A61K31/7072, 31/7076, 31/7084,  
A61P27/02 // C07H19/10, 19/20

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
Int.Cl.<sup>7</sup> A61K45/00, A61K31/7072, 31/7076, 31/7084,  
A61P27/02 // C07H19/10, 19/20

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  
Jitsuyo Shinan Koho 1940-1992 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-1996  
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-1992 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2001

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
CAPLUS (STN), BIOSIS (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN),  
JICST (JOIS)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CHA Seok Ho et. al., Purinoceptor-Mediated Calcium Mobilization and Cellular Proliferation in Cultured Bovine Corneal Endothelial Cells, Jpn. J. Phramacol., March 2000, Vol.82, 181-187, whole document, especially ABSTRACT, Fig.6 and DISCUSSION	1-4, 7-9
Y	KIMURA K. et. al., Effects of ATP and its analogues on [Ca <sup>2+</sup> ] <sub>i</sub> dynamics in the rabbit cornealepithelium., ARCHIVES OF HISTOLOGY AND CYTOLOGY, May 1999, Vol.62, No.2, P.129-38, whole document, especially Summary	1-4, 7-9
Y	WO 99/61012 A2 (Inspire Pharmaceuticals, Inc.), 12 October, 1999 (12.10.99), & AU 9940839 A & EP 1087777 A2	1-4, 7-9
Y	WO 98/34942 A2 (Inspire Pharmaceuticals, Inc.), 13 August, 1998 (13.08.98), & US 5900407 A & AU 9863242 A1 & EP 981534 A2	1-4, 7-9
PX	WO 00/50024 A2 (Inspire Pharmaceuticals, Inc.), 31 August, 2000 (31.08.00), No Family	1-4, 7-9

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:  
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance  
"E" earlier document but published on or after the international filing date  
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)  
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means  
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention  
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone  
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art  
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
17 August, 2001 (17.08.01)

Date of mailing of the international search report  
28 August, 2001 (28.08.01)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/04520

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 5,6  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Claims 5 and 6 pertain to methods for treatment of the human body by therapy and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl <sup>7</sup> A61K45/00, A61K31/7072, 31/7076, 31/7084, A61P27/02 // C07H19/10, 19/20		
B. 調査を行った分野		
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl <sup>7</sup> A61K45/00, A61K31/7072, 31/7076, 31/7084, A61P27/02 // C07H19/10, 19/20		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
日本国実用新案公報 1940-1992年		
日本国公開実用新案公報 1971-1992年		
日本国登録実用新案公報 1994-1996年		
日本国実用新案登録公報 1996-2001年		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)		
CAPLUS (STN)、BIOSIS (STN)、MEDLINE (STN)、EMBASE (STN)、JICST (JOIS)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	CHA Seok Ho et. al., Purinoceptor-Mediated Calcium Mobilization and Cellular Proliferation in Cultured Bovine Corneal Endothelial Cells, Jpn. J. Pharmacol., March 2000, Vol.82, 181-187, whole document, especially ABSTRACT, Fig.6 and DISCUSSION	1-4, 7-9
Y	KIMURA K. et. al., Effects of ATP and its analogues on [Ca <sup>2+</sup> ] <sub>i</sub> dynamics in the rabbit cornealepithelium., ARCHIVES OF HISTOLOGY AND CYTOLOGY, May 1999, Vol.62, No.2, P.129-38, whole document, especially Summary	1-4, 7-9
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日	17.08.01	国際調査報告の発送日
国際調査機関の名称及びあて先	日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 田村 聖子 電話番号 03-3581-1101 内線 3452
		4C 9051

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	WO 99/61012 A2(Inspire Pharmaceuticals, Inc.)12.Oct.1999(12.10.99) & AU 9940839 A & EP 1087777 A2	1-4, 7-9
Y	WO 98/34942 A2(Inspire Pharmaceuticals, Inc.)13.Aug.1998(13.08.98) & US 5900407 A & AU 9863242 A1 & EP 981534 A2	1-4, 7-9
PX	WO 00/50024 A2(Inspire Pharmaceuticals, Inc.)31.Aug.2000(31.08.00)No Family	1-4, 7-9

## 第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項(PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 5、6 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、

請求の範囲 5、6 は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT第17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iV)の規定により、この国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。

2. ☐ 請求の範囲 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、

3. ☐ 請求の範囲 は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

## ECTOCORNEA EXTENSION PROMOTERS

Description of corresponding document: **US2003186927**

### TECHNICAL FIELD

[0001] The present invention pertains to a type of corneal epithelial migration promoter that contains P2Y receptor agonist as the effective component.

### BACKGROUND

[0002] The cornea is transparent tissue with no blood vessels, a diameter of about 1 cm and a thickness of about 1 mm. The transparency of a cornea has an important influence on visual function. Various physiological and biochemical phenomena of the cornea mainly function to maintain this transparency.

[0003] Corneal epithelial defects caused by corneal ulcers, exfoliation of corneal epithelium, keratitis, dry eyes, and various other diseases can be repaired naturally if no mixed infection occurs. However, if repair is delayed or not made for certain reasons, corneal epithelial migration takes place, such that the normal epithelium construction is adversely affected, and the structure and function of the parenchyma and endothelium are also harmed. In prior art, the principal therapy was the so-called passive method, in which the surface of the cornea is protected from external stimulation so that the epithelium again extends naturally to cover the damaged portion. In recent years, with developments in cell biology, factors pertaining to split, movement, fusion, migration, etc., have been clarified, and it has been reported that compounds that can promote corneal epithelial migration play an important role (Ringan, 46, 738-743 (1992); Ganka Shujutsu, 5, 719-727 (1992)).

[0004] On the other hand, many authors have reported research on P2Y receptor agonists which are the effective component in the present invention. For example, U.S. Pat. No. 5,292,498 described use of uridine 5'-triphosphate (UTP), adenosine triphosphate (ATP), etc., in maintaining secretion of mucus as a characteristic feature in treating lung diseases. WO 97/29756 stated that UTP or other phosphoric acid nucleoside P2Y receptor agonists are effective in treating tympanitis. WO 98/34593 stated that UTP or other P2Y receptor agonists have a tear secreting function, and can be used in treating dry eyes and diseases of the nasolacrimal duct. However, no research yet exists on the corneal epithelial migration effect of P2Y receptor agonists.

[0005] Discovery of new applications of said P2Y receptor agonists is of great interest. Also, in ophthalmology, searching for compounds that can display a corneal epithelial migration promoting effect is a very important topic.

### DISCLOSURE OF THE INVENTION

[0006] The present inventors have searched for various compounds and performed tests on their pharmacological functions, and have found that P2Y receptor agonists have a corneal epithelial migration promoting effect. As a result, the present invention was reached.

[0007] The present invention provides a type of corneal epithelial migration promoter which contains as its effective component a P2Y receptor agonist; that is, a compound represented by following formula [I] (hereinafter referred to as "these compounds" if not specified otherwise).

[0008] The present invention also provides a corneal epithelial migration promoting method characterized by the fact that the patient is administered a composition containing an effective amount of a P2Y receptor agonist or a pharmacologically tolerated salt of it together with pharmacologically tolerated additives.

[0009] The present invention also pertains to the use of P2Y receptor agonists for manufacturing a corneal epithelial migration promoter.

EMI1.0

[0010] (where, n represents an integer of 1-4; X represents a hydrogen atom or the following group represented by formula [II]:

EMI2.0

[0011] where R1 and R2, which may be identical or different from each other, represent a uracil group, thymine group, adenine group, hypoxanthine group, or guanine group).

[0012] In these compounds, the uracil group, thymine group, adenine group, hypoxanthine group, and guanine group are optionally substituted with the following groups: a halogen atom such as fluorine, chlorine, and bromine, methyl group, ethyl group, propyl group, hexyl group, and C1-6 straight-chain or branched lower alkyl groups, methoxy group, ethoxy group, propyloxy group, hexyloxy group, and other C1-6 straight-chain or branched lower alkoxy groups, phenyl group, tolyl group, and other aryl groups, phenoxy group, and other aryloxy groups, benzyl group, phenethyl group, and other aralkyl groups, hydroxyl group, etc. Also, amino groups in the adenine group or guanidine group may be protected with generally used protecting groups. Examples of protecting groups include an acetyl group, pivaloyl group,

and other C2-6 lower alkanoyl groups, a benzoyl group, and other arylcarbonyl groups. Examples of preferable groups of R1 and R2 include the adenine group and uracil group.

[0013] There is no special limitation on the salts of these compounds, as long as they are tolerated pharmaceutically. Examples of salts that may be used include salts of sodium, potassium, calcium, and other alkali metals or alkaline earth metals; salts of ammonia or diethylamine, triethanolamine, and other organic amines; salts of hydrochloric acid, sulfuric acid, phosphoric acid, and other inorganic acids; salts of lactic acid, maleic acid, fumaric acid, oxalic acid, methanesulfonic acid, para-toluenesulfonic acid, and other organic acids; etc.

[0014] Among these compounds, there are optical isomers and diastereo isomers. These isomers are also included in the present invention. Also, these compounds may be in the form of a hydrate or other solvates.

[0015] Examples of compounds having particularly excellent effects include uracil 5'-diphosphoric acid, adenosine 5'-diphosphoric acid, uridine 5'-triphosphoric acid, adenosine 5'-triphosphoric acid, and P<4>-di(uridine-5')tetraphosphoric acid represented by formula [III], or their salts.

EMI3.0

[0016] Among these compounds, the sodium salt represented by formula [IV] in particular, displays an excellent corneal epithelial migration promoting effect.

EMI4.0

[0017] As pointed out in the prior art section, repair of a cornea that was damaged for various reasons is closely related to corneal epithelial migration. As proved in the pharmacological tests to be described later, P2Y receptor agonists of the present invention display excellent corneal epithelial migration promoting effects. Consequently, they may be used in treating various corneal diseases. Examples of corneal diseases include corneal ulcers, exfoliation of corneal epithelium, keratitis, etc. Also, since no substantial difference has been observed between corneas and conjunctiva, P2Y receptor agonists can display repair effects not only for corneas, but also for diseases of conjunctiva. In summary, P2Y receptor agonists are useful in treating diseases of corneas and conjunctiva.

[0018] Among the several sub-types of P2Y receptors, P2Y2 receptors are particularly good. Typical compounds of P2Y2 receptor agonists are disclosed in U.S. Pat. No. 5,292,498, WO 97/29756, etc.

[0019] There is no special limitation on the method of administration of a P2Y receptor agonist in the present invention. However, it is preferred that a P2Y receptor agonist be administered by local administration; in particular, as eye drops.

[0020] The concentration of P2Y receptor agonist in eye drops is selected corresponding to symptoms, age, etc., and there is no special limitation on it. Usually, however, the concentration should be in the range of 0.0001%-15%, or preferably in the range of 0.01%-10%. The dose of eye drops is in the range of one drop-several drops for each round of administration, and one-several rounds a day. In addition to conventional eye drops, the form of preparation of the eye drops may also be such that the agonist is dissolved just before use. Also, the form of preparation may be an eye ointment.

[0021] When the formulation is prepared it is possible to add various additives, as needed, such as sodium chloride, potassium chloride, or other isotonic agents, sodium phosphate, sodium hydrogen phosphate, sodium dihydrogen phosphate, or other buffers, sodium edetate or other stabilizers, benzalconium chloride, sorbic acid, or other preservatives, sodium hydroxide, dilute hydrochloric acid, or other pH adjusters, white Vaseline, fluidic paraffin, or other base agents for eye ointments. The formulation is prepared using a conventional method.

[0022] In the following, the present invention will be explained in detail with reference to application examples. However, these examples are only to help understand the present invention. They do not limit the range of the present invention.

#### OPTIMUM EMBODIMENT OF THE PRESENT INVENTION

[0023] Pharmacological Tests

[0024] Using cornea specimens collected from male Japanese white rabbits, the corneal epithelial migration length was used as an index in studying the cornea tissue culturing system according to the method of Nishida, et al. (J. Cell Biol., 97, 1653-1657 (1983)).

[0025] Experimental Method

[0026] Cornea blocks (6 specimens for each group) cut from rabbit cornea pieces were cultured in a culture solution (TCM-199) containing an invention compound at 37.5[deg.] C. and 5% CO2 for 24 h. After culturing, the cornea blocks were fixed in an ethanol/glacial acetic acid (95:5 by volume) mixture solution, followed by embedding with paraffin to form slices. After removal of the paraffin, the slices were subjected to hematoxylin-eosin staining, and the length of migration of the corneal epithelial layer was observed using a microscope. As a control, culturing was also performed using a culture solution not containing an invention compound.

[0027] Results

[0028] Table 1 lists the results of corneal epithelial migration rates under action of the following

compounds, with a control set at 100%: P<1>, P<4>-di(uridine-5')tetraphosphate tetra-sodium [DUTP-Na], uridine 5'-diphosphate di-sodium [UDP-Na], adenosine 5'-diphosphate di-sodium [ADP-Na], uridine 5'-triphosphate tri-sodium [UTP-Na], and adenosine 5'-triphosphate tri-sodium [ATP-Na].

<tb><sep>TABLE 1

<tb><sep>Compound (Concentration)<sep>Corneal Epithelial Migration Rate (%)

<tb><sep>DUTP-Na (100<sep>[mu]M)<sep>118.9

<tb><sep>UDP-Na (100<sep>[mu]M)<sep>115.3

<tb><sep>ADP-Na (10<sep>[mu]M)<sep>116.1

<tb><sep>UTP-Na (100<sep>[mu]M)<sep>123.1

<tb><sep>ATP-Na (10<sep>[mu]M)<sep>119.3

<tb><sep>Control<sep><sep>100.0

#### EXAMPLE FORMULATIONS

[0029] Typical formulations were prepared using P<1>, P<4>-di(uridine-5')tetraphosphate tetra-sodium [DUTP-Na], uridine 5'-triphosphate tri-sodium [UTP-Na], and uridine 5'-diphosphate di-sodium [UDP-Na]. Eye drops were prepared according to the following examples.

##### Example 1

[0030] In 100 ml:

[0031] DUTP-Na: 10 mg

[0032] Sodium chloride: 900 mg

[0033] Sterilized purified water: appropriate amount

[0034] By changing the amount of P<1>, P<4>-di(uridine-5')tetraphosphate tetra-sodium [DUTP-Na], eye drop concentrations of 0.03% (w/v), 0.1% (w/v), 0.3% (w/v), 1.0% (w/v), and 3.0% (w/v), were obtained.

##### Example 2

[0035] In 100 ml:

[0036] UTP-Na: 100 mg

[0037] Sodium chloride: 800 mg

[0038] Di-sodium hydrogen phosphate: 100 mg

[0039] Sodium dihydrogen phosphate: appropriate amount

[0040] Sterilized refined water: appropriate amount

[0041] By changing the amount of uridine-5' triphosphate tri-sodium [UTP-Na], eye drop concentrations of 0.3% (w/v), 0.5% (w/v), 1.5% (w/v), and 3.0% (w/v), were obtained.

##### Example 3

[0042] In 100 g:

[0043] DUTP-Na: 0.3 g

[0044] Fluidic paraffin: 10.0 g

[0045] White Vaseline: appropriate amount

[0046] By changing the amount of P<1>, P<4>-di(uridine-5')tetraphosphate tetra-sodium [DUTP-Na], eye ointment concentrations of 1% (w/v) and 3% (w/v) were obtained.

##### Example 4

[0047] In 100 g:

[0048] UDP-Na: 0.3 g

[0049] Fluidic paraffin: 10.0 g

[0050] White Vaseline: appropriate amount

[0051] By changing the amount of uridine-5'-diphosphoric acid di-sodium [UDP-Na], eye ointment concentrations of 1% (w/v) and 5% (w/v) were obtained.

[0052] As can be seen in Table 1, in the present invention, P<1>, P<4>-di(uridine-5')tetraphosphate tetra-sodium [DUTP-Na], uridine 5'-diphosphate di-sodium [UDP-Na], adenosine 5'-diphosphate di-sodium [ADP-Na], uridine 5'-triphosphate tri-sodium [UTP-Na], and adenosine 5'-triphosphate acid tri-sodium [ATP-Na] all can display significant corneal epithelial migration promoting effects. From such results of pharmacological tests, it is found that formulations containing P2Y receptor agonists in the present invention as the effective component can display an excellent corneal epithelial migration promoting effect, and can be used in treating diseases of corneas and conjunctiva.

#### INDUSTRIAL APPLICATION FIELD

[0053] P2Y receptor agonists can display an excellent corneal epithelial migration promoting effect, and can be used in treating diseases of corneas and conjunctiva.

---

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide



**ECTOCORNEA EXTENSION PROMOTERS**

Claims of corresponding document: **US2003186927**

What is claimed is:

1. A corneal epithelial migration promoter containing a P2Y receptor agonist as the effective component.
2. The corneal epithelial migration promoter described in claim 1 characterized by the fact that the P2Y receptor agonist refers to a compound represented by following formula [I] or its salts.

EMI5.0

(where, n represents an integer of 1-4; X represents a hydrogen atom or the following group represented by formula [II]:

EMI6.0

where R1 and R2, which may be identical or different from each other, represent a uracil group, thymine group, adenine group, hypoxanthine group, or guanine group).

3. The corneal epithelial migration promoter described in claim 1 or 2 characterized by the fact that the P2Y receptor agonist refers to P<1>, P<4>-di(uridine 5'-)tetraphosphoric acid, uridine 5'-diphosphoric acid, adenosine 5'-diphosphoric acid, uridine 5'-triphosphoric acid, or adenosine 5'-triphosphoric acid, or their salts.

4. A corneal epithelial migration promoting method characterized by the fact that the patient is administered a composition containing an effective amount of a P2Y receptor agonist or its pharmacologically tolerated salt together with pharmacologically tolerated additives.

5. The corneal epithelial migration promoting method described in claim 4 characterized by the fact that the P2Y receptor agonist refers to a compound represented by following formula [I] or its salts.

EMI7.0

(where, n represents an integer of 1-4; X represents a hydrogen atom or the following group represented by formula [II]:

EMI8.0

where R1 and R2, which may be identical or different from each other, represent a uracil group, thymine group, adenine group, hypoxanthine group, or guanine group).

6. The corneal epithelial migration promoting method described in claim 5 characterized by the fact that the P2Y receptor agonist refers to P<1>, P<4>-di(uridine-5')tetraphosphoric acid, uridine 5'-diphosphoric acid, adenosine 5'-diphosphoric acid, uridine 5'-triphosphoric acid, or adenosine 5'-triphosphoric acid, or their salts.

7. Use of a P2Y receptor agonist for manufacturing a corneal epithelial migration promoter.

8. The use described in claim 7 characterized by the fact that the P2Y receptor agonist refers to a compound represented by following formula [I] or its salts.

EMI9.0

(where, n represents an integer of 1-4; X represents a hydrogen atom or the following group represented by formula [II]:

EMI10.0

where R1 and R2, which may be identical or different from each other, represent a uracil group, thymine group, adenine group, hypoxanthine group, or guanine group).

9. The use described in claim 7 or 8 characterized by the fact that the P2Y receptor agonist refers to P<1>, P<4>-di(uridine-5')tetraphosphoric acid, uridine 5'-diphosphoric acid, adenosine 5'-diphosphoric acid, uridine 5'-triphosphoric acid, or adenosine 5'-triphosphoric acid, or their salts.

Data supplied from the *esp@cenet* database - Worldwide